

Leche humana y algunos factores de resistencia contra las infecciones

JOAQUÍN CRAVIOTO*‡ y
RAMIRO ARRIETA-MILÁN‡

Los datos en que se basa la aseveración de que la leche humana puede conferir al niño resistencia contra algunas infecciones, provienen de tres líneas principales de investigación. La primera comprende el análisis bioquímico, inmunológico y bacteriológico de la leche y de las heces de niños alimentados al seno materno. La segunda fuente de datos la constituyen los estudios epidemiológicos sobre morbilidad y mortalidad en niños alimentados con leche humana o con leche de vaca. Finalmente, la tercera fuente se deriva de los estudios de casos clínicos.

El cuadro 1 muestra los principales factores que pueden conferir resistencia al niño, así como el mecanismo propuesto de acción.¹

Inmunoglobulinas

Todos los tipos de inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE), se encuentran presentes en la leche humana. Aunque estas inmunoglobulinas tienen como fuente principal el suero sanguíneo, su patrón, típico de la mayor parte de las secreciones externas, es muy diferente del que se encuentra en el suero. Las concentraciones de inmunoglobulinas son mayores en el calostro que en la leche madura. Como puede verse

en el cuadro 2, las concentraciones de IgG e IgM son relativamente bajas durante el primer día postparto, en tanto que la concentración de IgA supera a la del suero.²

En el calostro obtenido el primer día postparto, la forma principal de IgA, o sea la IgA secretoria, está constituida por dos moléculas de IgA sérica unidas en forma covalente a una proteína, el componente secretorio, el cual no se encuentra en otras inmunoglobulinas. La IgA del calostro se sintetiza en la glándula mamaria a partir de dos moléculas de IgA sérica unidas por puentes disulfuro y relacionadas una con otra por dos moléculas que constituyen las "piezas de transporte". El resultado es una estructura característica de una inmunoglobulina secretoria,³ con peso molecular aproximado de 375 000. La IgA purificada, obtenida del calostro, tiene estructuras características de los anticuerpos séricos.⁴

Inmediatamente después del primer día, a medida que la leche empieza a madurar, la concentración de IgA disminuye en forma progresiva, detectándose simultáneamente el componente libre.

Las concentraciones de IgA en el calostro, varían de 4 a 17 mg./ml., durante el primer día postparto.⁵⁻⁷ Mata y Wyatt,⁵ han comunicado que en mujeres indígenas del altiplano de Guatemala, las concentraciones de IgA, medidas con un suero 11-S, eran de alrededor de 4.1 mg./ml. en el calostro del 2° al 4° día. Después de dos semanas del parto, la

* Académico numerario.

‡ Instituto Nacional de Ciencias y Tecnología de la Salud del Niño. Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia.

Cuadro 1. Algunos componentes de la leche materna que pueden conferir resistencia al niño contra infecciones.

COMPONENTES	MODO PROPUESTO DE ACCION
IgA secretoria y algunas otras inmunoglobulinas	Anticuerpos de protección en el tracto respiratorio y digestivo
Factor antiestafilocócico	Inhibe al estafilococo
Leucocitos y otras células	Fagocitosis Producción de IgA, C-4, C-3 Lisozima, lactoferrina
Complemento (C-3, C-4)	El factor C-3 tiene actividad opsonizante, quimiotáctica y anafilatóxica
Lactoferrina	Mata a los microorganismos por medio de la acción quelante del hierro
Lisozima	Destrucción de la pared celular
Lactoperoxidasa + H ₂ O ₂ + tiocianato.	Destruye el estreptococo
Factor de crecimiento del lactobacilo bífido.	Interfiere con la colonización del intestino por gérmenes patógenos.

Tomado de Goldman, A. S. y Smith, C. W.¹

concentración de IgA disminuyó a un promedio de 1.8 mg./ml., permaneciendo en este nivel durante el primer año de la lactancia. En muestras colectadas de siete mujeres después de un año de lactancia, la IgA presentó concentraciones aproximadamente de 2.4 mg./ml.

Informes provenientes de diferentes fuentes,⁸⁻²⁴ han señalado la presencia de anticuerpos en el calostro o en la leche, contra un gran número de microorganismos, entre los cuales se encuentran: *E. coli* enteropatógena, *Salmonella*, *Shigella*, bacilo tetánico, *D. pneumoniae*, *Hemophilus pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, poliovirus 1, 2, 3, Coxsackie B1, B5, B9; virus ECHO 6 y 9 y el virus de la influenza.

Asimismo se ha informado^{25,26} que la leche humana inhibe el crecimiento *in vitro* de los virus de la parotiditis, de la encefalitis B japonesa y de la vaccinia. Hasta el momento se desconoce si esta in-

Cuadro 2. Inmunoglobulinas en el calostro (mg./ml.).

Días postparto	IgA	IgG	IgM
Primero	6.00	0.80	1.25
Segundo	2.60	0.45	0.65
Tercero	2.00	0.30	0.58
Cuarto	0.80	0.16	0.30

Tomado de Michael, J. G. y col.²

hibición se debe a los anticuerpos o a otros factores. También es escasa la información sobre la presencia o ausencia de anticuerpos en la leche humana, a otros patógenos tales como *H. influenzae*, virus sincicial respiratorio y *Mycoplasma pneumoniae*.

A diferencia de las observaciones realizadas en muchas especies, tales como el caballo, el cerdo y la res, en los cuales los anticuerpos de la leche pasan rápidamente del intestino del neonato a la corriente sanguínea después del alumbramiento, en el ser humano no hay evidencia de que los anticuerpos maternos sean absorbidos del tracto intestinal del recién nacido.²⁵⁻²⁷ Parece más probable que la acción de los anticuerpos en la leche humana esté limitada al efecto local protector de los anticuerpos de la IgA secretoria en el tracto alimentario del neonato. Este concepto se basa en datos que muestran que: 1) los anticuerpos en la leche humana son más resistentes a la pepsina o a la digestión ácida, que los anticuerpos del suero; 2) la IgA del calostro es intrínsecamente resistente a la digestión triptica; 3) en la leche humana se encuentra, durante los primeros cinco días postparto, un inhibidor de la tripsina; y 4) la IgA del calostro se une a la tripsina y en un grado menor a la quimotripsina, en tanto que no sucede lo mismo con la IgA del suero.²⁸⁻³¹

Varios autores han demostrado la sobrevida de anticuerpos del calostro en el tracto alimentario. En 1949, Schubert y Grundberg¹⁹ encontraron aglutininas II de salmonela en las evacuaciones de niños alimentados al seno, cuyas madres habían sido inmunizadas previamente contra este antígeno. Kenny y asociados en 1967, Michael y colaboradores en 1971 y Gindrat y colaboradores en 1972, documentaron la presencia de títulos elevados de anticuerpos contra *E. coli* en las evacuaciones de niños que fueron alimentados con leche humana, mientras que en los niños alimentados con leche de vaca, no existían anticuerpos en las evacuaciones o los había a títulos muy bajos.^{2, 17, 32} Michael, Ringenback y Hottenstein² también han encontrado correlación negativa entre el número de bacterias coliformes en las evacuaciones de niños alimentados al seno y la presen-

Cuadro 3. Promedio y variación de las concentraciones de la IgG e IgM en el calostro y la leche de mujeres indígenas de Guatemala.*

	IgG (mg./ml.)	IgM (mg./ml.)
Calostro (1-4 días)	0.063 (0.025-0.185)	0.095 (0-0.340)
Leche		
1 semana	0.063 (0.030-0.096)	0.017 (0-0.035)
2 semanas	0.074 (0.025-0.103)	0.007 (0-0.035)
3 semanas	0.063 (0.025-0.102)	0.011 (0-0.055)
4 semanas	0.090 (0.025-0.150)	0

* Datos de Mata, L. J. y Wyatt, R. G.⁵

cia de títulos altos de aglutininas y anticuerpos bactericidas específicos contra *E. coli*. De gran interés es el hallazgo de que la concentración de copro-anticuerpos es paralela a los títulos de anticuerpos en el calostro humano. La ausencia de estos anticuerpos en las heces de los niños alimentados con leche de vaca, sugirió posteriormente la transferencia de estos coproanticuerpos vía el calostro.

En relación a otras funciones de inmunoglobulinas presentes en la leche humana, Amman y Stiehm,⁷ han encontrado concentraciones muy bajas de IgG e IgM. En el calostro inicial, los valores promedio fueron de 0.4 mg./ml. para IgG y de 1.6 mg./ml. para IgM. Después de cuatro días, las concentraciones fueron de 0.04 mg./ml. para la IgM. El cuadro 3, tomado de Mata y Wyatt,⁵ muestra las concentraciones de las inmunoglobulinas IgG e IgM en el calostro y en la leche de cinco mujeres indígenas de Guatemala, durante las primeras cuatro semanas después del parto. Estos datos son muy semejantes a los hallazgos de Michael y colaboradores.²

Iyengar y Selvaraz³³ encontraron niveles de inmunoglobulinas séricas IgG e IgM significativamente más altos en niños que recibieron calostro que en aquellos que no lo consumieron.

Se han hallado títulos altos de anticuerpos específicos contra muchos serotipos de *E. coli* en la leche de mujeres de sociedades altamente industrializadas. Esto parece indicar que la concentración de estos anticuerpos en la leche humana no está influenciada por el estado socioeconómico ni por la condición nutricional de la madre.³⁴

Parece ser que tanto los anticuerpos IgG como los IgM, son estructuralmente idénticos o muy se-

mejantes a los de las inmunoglobulinas del suero. Si bien parece muy probable que los anticuerpos IgG e IgM de la leche se originen en el suero, esto no se ha investigado en seres humanos.

Por medio de un método más discriminativo, Hanson y colaboradores³⁵ han encontrado títulos significativamente altos de anticuerpos contra el antígeno capsular de *E. coli*. Los títulos mostraron un descenso rápido del calostro a la leche madura, semejante al patrón obtenido para la fracción IgA de la leche. Mata y Wyatt⁵ han demostrado la presencia de anticuerpos de hemaglutinación pasiva al polisacárido "O" de muchas *Enterobacteriaceae*. En el calostro y en la leche obtenidas de una serie de 45 madres indígenas de Guatemala, pertenecientes al grupo lingüístico Cakchiquel, 32 de ellas presentaron títulos de anticuerpos de por lo menos 1:32; y siete alcanzaron títulos de anticuerpos de 1:64 para uno o más antígenos. Aunque en general los títulos disminuyeron rápidamente después del parto, en algunas madres la concentración de anticuerpos contra algunos antígenos fue mayor en la leche madura que en el calostro. En el cuadro 4, que muestra los datos de cinco mujeres, puede observarse que la leche madura de una de ellas posee actividad de anticuerpos mayor que la del calostro, contra los polisacáridos de *Shigella flexneri* 1 y *Shigella flexneri* 6.

Es interesante el hecho de que en estas cinco mujeres, los títulos de anticuerpos contra una de las cepas patogénicas más comunes de *E. coli* (O111:B4) son nulos o muy bajos, tanto en el calostro como en la leche.

En relación a la forma de acción de la IgA secretoria, se ha demostrado que estos anticuerpos cubren y aglutinan microorganismos;³⁶ que previenen que las bacterias se adhieran a las membranas mucosas;³⁷ y que en unión de la lisosima, los anticuerpos de la IgA secretoria parecen mediar el efecto bactericida contra *E. coli*.¹⁰ También se ha comprobado que los anticuerpos de la IgA secretoria pueden aumentar la potencia del efecto bacteriológico de la lactoferrina sobre *E. coli*.³⁸

Dentro del contexto de estos datos, parece importante recordar que es un hecho aceptado que *E. coli* sólo produce diarrea cuando la bacteria se adhiere a la membrana mucosa del intestino, particularmente a las porciones superiores del intestino delgado, por sus pili o fimbria. Los anticuerpos anti-fimbria producen la unión de los pili, interfiriendo de esta manera con la adhesión de la bacteria a las células epiteliales del intestino. Estos anticuerpos se encuentran en la IgA de tipo secretor.

Se han detectado anticuerpos virales neutralizantes en el calostro humano y en la leche de madres de países industrializados y preindustrializados. En 1962, Sabin y Fieldsteel²¹ señalaron la presencia de actividad contra el virus de la poliomielitis en la leche humana de mujeres norteamericanas. Este principio activo no pudo distinguirse de los anticuerpos anti-

Cuadro 4. Evolución de anticuerpos hemaglutinantes pasivos a polisacáridos de enterobacterias en el calostro y en la leche* de cinco madres indígenas de Guatemala.

Madre	Tiempo de lactancia (semanas)	Título recíproco de anticuerpo					
		<i>Shigella dysenteriae</i> 2	<i>Shigella flexneri</i> 1	<i>Shigella flexneri</i> 6	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Escherichia coli</i> 0111:B4	<i>Salmonella panama</i>
1	Calostro	64	256	256	0	4	2
	1	8	64	16	16	0	0
	2	4	32	32	8	0	0
	3	0	64	32	8	0	0
	4	0	32	16	8	0	0
2	Calostro	32	32	2	0	4	16
	1	4	8	8	0	0	0
	2	0	0	8	0	0	0
	3	0	16	8	0	0	8
	4	0	8	4	0	2	0
3	Calostro	8	8	0	4	0	0
	1	0	4	4	0	0	0
	2	0	8	4	0	0	0
	3	0	16	4	0	0	0
	4	8	32	16	0	0	0
4	Calostro	0	256	8	0	0	8
	1	0	32	4	0	0	0
	2	0	32	2	0	0	0
	3	0	64	4	0	0	2
	4	0	16	2	0	0	0
5	Calostro	16	32	4	4	4	2
	1	8	8	4	0	0	0
	2	8	8	2	0	0	0
	3	4	4	0	0	0	0
	4	8	4	2	0	0	0

* Medición en suero.

Datos de Mata, L. J. y Wyatt, R. G.⁵

polio del suero. Michaels²³ también ha comprobado que el calostro de las madres de un país altamente industrializado, contenía anticuerpos neutralizantes contra uno de los siguientes enterovirus: polio 1, 2, 3, Coxsackie B1, B5, B9 y ECHO 6 y 9. Mata y Wyatt,⁵ pudieron medir en su estudio longitudinal de la colonización del intestino, anticuerpos neutralizantes contra poliovirus 1 y virus Coxsackie B5 en el calostro y en la leche de madres indígenas de Guatemala. Sus datos, presentados en el cuadro 5, muestran en ocho de nueve especímenes de calostro, actividades significativas de anticuerpos contra virus de la polio 1, y en seis especímenes contra el virus Coxsackie B5. La disminución postparto de la actividad de los anticuerpos fue tan rápida, que de 15 muestras colectadas entre 4 y 28 días después del parto, únicamente una de ellas fue positiva, con título de 10 para virus polio y Coxsackie. Solamente una de las muestras colectadas entre las 4 y 52 semanas

fue positiva para el virus polio y ninguna para el Coxsackie. Finalmente, de cinco muestras de leche obtenidas entre 3.5 y 3.9 años después del parto, dos presentaron títulos positivos de 1:10 para el virus de la polio solamente.

Además de su efecto sobre los microorganismos, al través de varios mecanismos, los anticuerpos secretores parecen desempeñar un papel importante en el control de la absorción de macromoléculas, que pueden actuar como estímulos sistemáticos antigénicos. Walker y colaboradores,³⁹ demostraron que en ratones inmunizados localmente, la absorción de antígeno podía reducirse veinte veces en presencia de anticuerpos secretores. La importancia clínica de estos hallazgos, en el caso de presentarse en seres humanos, es muy aparente.

En 1960, Schmidt comunicó que la leche humana obtenida durante la primera semana de lactación, inhibía fuertemente la capacidad hemaglutinante del

Cuadro 5. Anticuerpos virales neutralizantes en el calostro y en la leche* de madres indígenas de Guatemala.

Tiempo después del nacimiento del niño	Núm. de muestras	Poliovirus 1		Coxsackie virus B5	
		Positivo	Títulos**	Positivo	Títulos ^b
1 a 3 días (calostro)	9	8	10-160	6	10-640
4 a 28 días	15	1	10	1	10
29 días a 52 semanas 191 y 201 semanas	20	1	10	0	
3.5 — 3.9 años	5	2	10	10	
Total	49	12	7		

* Medidos en suero

** Recíprocos

Tomado de Mata, L. J. y Wyatt, R. G.⁵

virus de la influenza, en tanto que la leche de vaca no mostró tal efecto en ninguna etapa de la lactación.⁴⁰

Se han encontrado antiestreptolisina y antiestafilococina en el calostro humano.¹² En este aspecto, György y asociados⁴¹ mostraron la presencia de un factor termostable antiestafilocócico en la leche humana. Ratonos jóvenes tratados previamente en forma parenteral con leche humana, sobrevivieron una infección grave con estafilococo virulento, mientras que los tratados también previamente con leche de vaca o los que no fueron tratados, no tuvieron protección y murieron. Aunque la caracterización química de este factor es aún incompleta, parece ser un ácido graso monoinsaturado C 18:2, distinto del ácido linoléico. No se pudo encontrar ningún informe, en la literatura consultada, sobre la protección contra la infección estafilocócica en recién nacidos humanos o animales experimentales, mediante la administración oral del factor de György.

Células del calostro humano

Ya en 1845, Donné describió la presencia de células o cuerpos celulares en el calostro de animales.⁴² Este hallazgo resultó importante en relación con la industrialización de la leche, debido a que se pensaba que las células del calostro eran células epiteliales o picocitos provenientes de glándulas mamarias infectadas.

Actualmente se sabe que la leche de vaca contiene células epiteliales, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, todos ellos componentes normales de la leche de varios mamíferos. En la leche de vaca, el número de células varía de acuerdo con la raza, el período de lactancia, la hora de alimentación y aun del pezón de la vaca.

El número de células es extremadamente variable en el calostro humano y en la leche. El promedio de leucocitos en el calostro es aproximadamente de 2 400 células, 90 por ciento de las cuales muestran estructura celular completa y fagocitosis activa.

En cuanto al papel que desempeñan las células de la leche, Goldblum y colaboradores,⁴³ han propuesto la existencia de un sistema entero-mamario, por el cual las células plasmáticas de la mucosa intestinal de la madre, estimuladas antigénicamente, emigran al tejido mamario, en donde secretan anticuerpos o son excretadas directamente en la leche materna donde producen anticuerpos.

Los linfocitos, que comprenden aproximadamente 10 por ciento de los leucocitos en el calostro humano, liberan uno de los intermediarios *in vitro* de la inmunidad mediada celularmente, el factor de migración. Más aún, Mohr⁴⁴ ha comunicado que la hipersensibilidad tardía a la tubérculo-proteína puede transferirse de madres sensibilizadas a sus niños por medio de la alimentación al seno.

Beer y Billingham,⁴⁵ ha proporcionado evidencia circunstancial de que en ratas y en ratones, los leucocitos pueden transmitirse de la corriente sanguínea de la madre a la del lactante al través de la leche, y que esta transferencia puede ser benéfica o perjudicial, dependiendo del contexto genético, hasta el grado de poder iniciar enfermedad injerto-huésped.

En uno de sus más importantes experimentos, estos autores trataron cuatro grupos de ratas Fisher recién nacidas de madres normales en la siguiente forma:

- 1) Crianza por sus madres normales Fisher (controles) F1.
- 2) Al nacimiento, transferencia a madres adop-

Cuadro 6. Influencia de la alimentación recibida al principio de la vida sobre la aceptación o rechazo de un aloinjerto de piel en ratas de 21 días, cepa Fisher.*

Grupo experimental	Cepa de la madre encargada de la lactancia	Edad en que se transfirieron a las madres adoptivas	Núm. de animales injertados	Días postinjerto					TMS+DS** (Días)
				8	10	12	14	16	
				Núm. y (%) de injertos sobrevivientes					
A	Fisher	No transferidos	37	37(100)	17(46)	2(5)	0	0	9.9±1.10
B	Lewis	0 hrs.	30	30(100)	21(70)	12(40)	5(17)	3(10)	11.3±1.23
C	Lewis	24 hrs.	15	10(67)	3(20)	1(7)	1(7)	0	8.4±1.25
D	(F1×LE) _{F1}	0 hrs.	26	20(77)	15(58)	8(31)	2(8)	2(8)	11.0±1.2

Modificado de Beer, A. E. y Billingham, R. F.⁴⁵

*Todos los huéspedes injertados con piel de Lewis a los 21 días de edad.

**TSM = Tiempo medio de sobrevida del injerto ± una desviación estándar.

tivas de cepa Lewis (LE), antes de que se les administrara cualquier tipo de leche de sus propias madres Fisher.

- 3) Alimentación por sus propias madres Fisher durante las primeras 24 horas de vida y después, transferencia a madres Lewis.
- 4) Transferencia inmediatamente al nacimiento a madres híbridas Fisher-Lewis V.

A los 21 días de edad, los animales de los cuatro grupos fueron sometidos a aloinjertos de piel de la cepa Lewis, para comparar la reactividad de los receptores de las células alogénicas de la leche con la de los receptores de las células singénicas de la leche.

Los resultados del experimento se muestran en el cuadro 6, en el cual puede observarse que el tiempo de supervivencia del injerto y la mortalidad, están fuertemente relacionados con la cepa de la rata que alimentó a la camada durante las primeras 24 horas de vida. Si se hace un corte a los diez días o menos de la supervivencia del injerto y se prueban las diferencias en las proporciones de los injertos sobrevivientes, la χ^2 de proporciones da un valor de 10.92, que con tres grados de libertad es significativa a un nivel de confianza menor de 5 por ciento. Si se parte el valor de χ^2 obtenida, contrastando el grupo transferido después de las 24 horas de ser alimentado por sus propias madres, con los grupos que fueron transferidos tanto a las cero horas como los que no se transfirieron, el valor de la χ^2 para este contraste es de 7.03, que con un grado de libertad es también significativo al 0.05. Finalmente, la χ^2 restante de 3.89 también muestra una diferencia significativa entre el grupo control y los grupos de ratas transferidas a las cero horas.

Parece importante señalar que aproximadamente la mitad de los leucocitos del calostro son leucocitos timo-dependientes, sensibles a la estimulación in

vitro por fitohemaglutinina y concanavalina A.⁴⁶ En cuanto al papel de los linfocitos del calostro, es interesante que a pesar de sus semejanzas estructurales y de conducta con los leucocitos sanguíneos, a diferencia de estos los del calostro únicamente sintetizan IgA, aparentemente del tipo secretor.⁴⁷ Las células del calostro, probablemente macrófagos, sintetizan las fracciones C-3 y C-4 del complemento, así como lactoferrina y lisozima. No se han detectado otras fracciones del complemento en el calostro o en la leche entera.

Factores del complemento

André y asociados, han demostrado la presencia, en la leche, de un proactivador del C-3, que es una ruta alterna para la activación del complemento. En relación a lo anterior, parece probable que la Ig^b o la IgA del calostro activen el C-3 in vivo. Aunque el C-3 activado en la leche humana podría ser importante debido a sus propiedades opsonicas, anafilatóxicas y quimiotáxicas, la actividad del C-3 del calostro en el recién nacido aún no se conoce.⁴⁸ Mata y Wyatt⁴⁹ detectaron en madres de Guatemala el componente C-3 del complemento en el calostro, en concentraciones que van de 0.028 a 0.007 mg./ml. Estos niveles bajos disminuyeron significativamente dos semanas después del parto y para las cuatro semanas ya no se registró ninguna actividad del complemento.

Otros factores

Aunque la concentración de lactoferrina en la leche humana (aproximadamente 1 mg./ml.) es la más alta de todos los líquidos biológicos en que se ha encontrado esta sustancia y su afinidad por los iones ferrosos, debido a su insaturación, excede a la de la transferrina sérica, su efecto protector en el tracto gastrointestinal del niño no ha sido demostrado. En

estudios *in vitro*, la lactoferrina insaturada de la leche humana inhibe el desarrollo de *Candida albicans*, de ciertos tipos de *E. coli* y estafilococos, aparentemente porque les quita el hierro a estos microorganismos.⁴⁹⁻⁵⁴

Otro componente de la leche que tiene propiedades antimicrobianas es la lisozima.⁵⁵ En forma semejante a la lactoferrina, la lisozima en la leche humana alcanza la concentración más alta de todos los líquidos biológicos estudiados. Sin embargo, en la concentración más frecuentemente observada (30 a 40 mg./100 ml.), la lisozima es 300 veces menos abundante que en la leche de vaca.⁵⁶⁻⁵⁸ Debido a su estabilidad a pH ácido, el contenido de lisozima en las heces de los niños alimentados al seno es mayor que en los niños alimentados artificialmente.⁵⁹ Se ha dicho que la lisozima desempeña un papel importante en el desarrollo de la flora intestinal del recién nacido.⁶⁰ Los estudios de Adinolfi¹⁶ y de Miller⁶⁰ han mostrado que la lisozima puede tener interacción con otros componentes de la leche para producir la lisis de algunas cepas de *E. coli*. Ciertos tipos de *Salmonella* también se destruyen después de que los microorganismos han sido muertos por la acción combinada del peróxido de hidrógeno y del ácido ascórbico, ambos presentes en la leche humana.

Entre otras enzimas características de la leche humana, es de interés una peroxidasa susceptible en destruir al estreptococo *in vitro*. Se ha demostrado que esta enzima, en unión con el peróxido de hidrógeno y los iones del tiocianato, constituye un sistema antibacteriano *in vitro*.⁶¹ Sin embargo, una vez más, se desconoce tanto el efecto de la enzima como del sistema, sobre la resistencia del recién nacido humano a las infecciones.

Flora intestinal

Desde principios de este siglo se sabe que la flora intestinal de niños recién nacidos alimentados al seno materno, se compone casi exclusivamente de *Lactobacillus bifidus*, en tanto que la flora intestinal de los niños que no son alimentados en esta forma, es de tipo mixto. Gyllenberg y Roine⁶² encontraron que 99 por ciento de la flora fecal de niños alimentados al seno estaba constituida por *Lactobacillus bifidus*. La proporción de estos bacilos en las heces de los niños alimentados con leche hervida de vaca fue menor de 60 por ciento. La razón de esta diferencia parece ser la presencia, en la leche humana, de un factor o factores que promueven el crecimiento de *Lactobacillus bifidus*. A pesar de que la leche de vaca parece contener estos factores, su actividad es de 40 a 100 veces menor que la actividad presente en la leche humana.⁶³⁻⁶⁶

Desde el punto de vista químico, el factor del *Lactobacillus* se ha identificado como un compuesto nitrogenado dializable que contiene carbohidrato (metil - N - acetil - glucosamina).⁶⁷⁻⁶⁸ *Lactobacillus bifidus* metaboliza muchos azúcares que producen

grandes cantidades de ácidos láctico y acético y pequeñas cantidades de ácidos fórmico y succínico. Debido a la producción de estos ácidos, el pH de las heces de niños alimentados al seno es mucho más bajo que el de los niños alimentados con leche de vaca. La presencia de bacilos bifidos, como flora predominante, parece ser antagonista a ciertos patógenos.⁶⁹ No está claro si este antagonismo se debe a la producción de un medio altamente ácido en el intestino o si los bacilos *per se* inhiben el desarrollo de otras especies al través de la competencia biológica por ciertos nutrimentos, o por una combinación de estos dos factores. Sin embargo, parece un hecho que mientras que la flora intestinal predominante sea *Lactobacillus bifidus*, los niños alimentados al seno son resistentes a las infecciones por algunos patógenos, tales como *Shigella* y protozoarios intestinales. Aun cuando *Shigella* sea aislada de las heces fecales, los niños no exhiben sintomatología propia de shigelosis.⁷⁰⁻⁷³

Estudios epidemiológicos

Existe literatura muy extensa sobre las diferencias en la morbilidad y la mortalidad entre los niños alimentados al seno y los alimentados con leche de vaca.⁷⁴⁻⁸² Cuando se investigan objetivamente los informes, dejando a un lado la teleonomía que se suele aplicar a la alimentación al seno, se hace evidente que en los medios altamente contaminados, en los cuales viven los segmentos socioeconómicos débiles, la supresión de la alimentación al seno y la introducción concomitante de otros alimentos o maneras de alimentación, se acompañan de ataques de diarrea cada vez más frecuentes y de mayor gravedad. La diarrea del destete, descrita por Gordon,⁸³ constituye la sistematización de estos conocimientos. Como se mencionó anteriormente, aun bajo condiciones mínimas de higiene, las infecciones de *E. coli* y las shigelosis son poco frecuentes en niños alimentados al seno. Mata y colaboradores^{60-72, 81-86} han señalado que aun en presencia de alta prevalencia de portadores de *E. coli* y de contaminación de la leche humana por bacterias fecales, la colonización intestinal por *E. coli* es baja en niños alimentados al seno. Resultados semejantes se obtuvieron con respecto a la *Shigella*. En un pueblo del centro de México en donde se alimentó a los niños al seno, a pesar de la incidencia tan alta de diarrea, los ataques fueron leves y ninguno de los niños afectados requirió tratamiento específico ni hospitalización,⁸⁶ por supuesto en este último estudio no hubo grupo de comparación, ya que todos los niños fueron alimentados al seno materno.

La evaluación científica de los efectos de la alimentación al seno en niños nacidos y desarrollados en niveles higiénicos adecuados, hijos de padres de estratos socioeconómico y cultural medios o elevados, es difícil de conducir e interpretar. Las dificultades están fundamentalmente relacionadas al reducido número de niños que son alimentados al seno;

Cuadro 7. Episodios de enfermedad durante el primer año en familias con niveles de educación formal altos y bajos.

Nivel educacional	Seno*		Artificial**	Prueba de X ²
	Prolongado	Limitado		
Padre				
>12 años	41(20/49)*	65(11/17)	108(41/38)	P 0.001
<12 años	47(7/15)	84(21/25)	82(89/109)	NS
Madre				
>12 años	39(17/44)	42(8/19)	75(30/40)	P 0.05
<12 años	50(10/20)	104(24/23)	93(100/107)	NS

NS = No significativa.

*Episodios por 100 pacientes (número de episodios/número de pacientes).

**Incluyendo lactantes alimentados al seno durante menos de seis semanas.

al hecho de que la adición temprana de otra leche o de otros alimentos es la regla más que la excepción; y a la disminución del número de niños en las cohortes de los niños estudiados a través del tiempo. Como ejemplo sirve el estudio de Cunningham,⁸⁷ quien trabajó con las historias clínicas de todos los niños nacidos en un hospital rural de los Estados Unidos de Norteamérica durante un periodo de un año, en el cual ocurrieron 357 nacimientos. Se excluyeron del estudio 31 niños debido a que su peso al nacer fue menor de 2 500 gramos o por presentar serios problemas durante el periodo neonatal. De los 326 niños restantes, 73 no asistieron con regularidad a la clínica pediátrica durante el primer año de la vida. Por consiguiente, 29 por ciento del total de nacimientos no quedó incluido en el análisis. Además, de los 164 niños que estaban alimentados al seno al ser dados de alta del hospital, solamente 84 recibían leche humana a los tres meses de edad y para los nueve meses de edad, únicamente 33 de estos niños continuaban alimentados al seno.

Para hacer lo que se consideró como una "equiparación de morbilidad", el autor tuvo que recurrir al cálculo del agregado de pacientes-semana por forma de alimentación. Para contrastar la morbilidad entre los grupos, se tuvo que calcular el número de episodios de enfermedad por mil pacientes-semanas. Obviamente, a pesar de que el tiempo total de riesgo tiene ahora el mismo denominador, el riesgo diferencial relativo a la edad durante el primer año de la vida se ha hecho igual para todas las edades intermedias, lo cual obviamente es erróneo.

Además de lo anterior, las tasas de ataque calculadas en esta forma pueden ser espurias, puesto que es suficiente que un pequeño número de niños, en cualquiera de los grupos, haya tenido ataques repetidos de enfermedad, para concluir que el grupo en

general se comporta de la misma manera.

La obtención de resultados contradictorios en este tipo de estudios, se puede ilustrar con el cuadro 7, correspondiente a la tabla 5 del trabajo de Cunningham. En ella puede observarse, que contrastando los niveles educativos de los padres y de las madres con los episodios de enfermedad de sus niños, de acuerdo con el tipo de alimentación, en el grupo de padres con mejor educación hay un gradiente de frecuencia de enfermedad, con la tasa más alta para niños alimentados artificialmente, la tasa más baja de enfermedad para los niños alimentados al seno en forma prolongada (más de 4.5 meses) y una cifra intermedia para los niños alimentados al seno por corto tiempo. Causa gran sorpresa que no se haya encontrado diferencia significativa entre los grupos de niños con padres de educación más baja.

¿Deberemos interpretar estos datos en el sentido de que la alimentación al seno es benéfica en las familias con mejor educación y que la alimentación artificial es tan buena como el seno materno en las familias menos educadas? Uno esperaría lo contrario: un gradiente más significativo en los niños de padres con escasa preparación, puesto que un nivel más alto en la educación de los padres significaría, al menos hipotéticamente, la disminución del riesgo en la contaminación de la leche o de la fórmula que se proporciona como sustituto de la leche materna. Obviamente, no es posible concluir, como alternativa, que la educación más baja protege contra los efectos "dañinos" de la alimentación artificial. La mejor conclusión es que no debemos tratar de hacer correlaciones bivariadas a fenómenos multicausales, tales como la enfermedad durante el primer año de la vida. Ciertamente, se hacen necesarios en forma urgente estudios epidemiológicos prospectivos.

Estudios clínicos

Existe buen número de estudios clínicos que sugieren fuertemente que el neonato puede adquirir protección contra la diarrea del recién nacido, por la ingestión de leche humana. Swirsky-Gross⁸⁸ y Tasovatz y Kotsitoh⁸⁹ han informado del control de brotes epidémicos de diarrea del recién nacido en cuneros mediante la administración de leche materna. Aun cuando el agente responsable del brote continúe aislándose de las heces fecales, los niños no presentan diarrea. Larguía y asociados⁹⁰ también han descrito la prevención de la diarrea debida a *E. coli* o salmonela en niños prematuros, con la administración de calostro humano, a dosis de 5 ml./Kg./día.

La enterocolitis aguda necrotizante puede producirse experimentalmente en ratas recién nacidas, por la combinación de hipoxia al nacimiento y la inoculación de *Klebsiella*, si los animales se alimentan con leche heteróloga. La necrosis puede ser prevenida por la administración de leche homóloga.⁹¹ A este respecto, Herbst⁹² ha presentado datos que muestran que la frecuencia de la enterocolitis necrotizante se incrementa en niños prematuros alimentados con fórmulas hipertónicas. El grado de protección que la leche humana puede conferir contra la enterocolitis necrotizante, aún no se ha documentado plenamente.

Panorámica a modo de resumen

Nadie duda que la alimentación al seno materno debe ser la regla en la especie humana. Las buenas intenciones, altamente deseables, la emocionalidad y la teleonomía han tendido a desviar la investigación sobre las posibles ventajas de la leche humana, de la objetividad indispensable que requiere el juicio científico.

La objetividad de la ciencia consiste en la negación sistemática de que una pieza sólida de conocimiento verdadero pueda ser adquirida planteando y explorando un problema enunciado por sus causas últimas (teleología, teleonomía).

Al presente, la situación vista por los autores de esta revisión parece ser la siguiente:

1. La presencia de IgA secretoria en el calostro y la leche, parece ser un enlace biológico entre el recién nacido que no ha desarrollado la capacidad para producir sus propios mecanismos de defensa local y el adulto, con toda su capacidad desarrollada.
2. La probabilidad de transferencia de células de importancia inmunológica de la madre al niño, al través de la leche, con evidencia en animales experimentales, aparece como un campo extremadamente importante de investigación.
3. La probable existencia de un mecanismo enteromamario para la activación o liberación de inmunocompetencia contra la diarrea en el recién nacido, es un campo promisorio de investigación.

4. La menor mortalidad en niños alimentados al seno materno en ambientes desfavorables, debe ser científicamente investigada para tratar de cuantiar el papel que desempeña cada uno de los factores que intervienen en este fenómeno (leche humana, riesgo de exposición a patógenos, cantidad de inóculo y muchos otros).
5. El papel de ciertos factores, tales como lactoperoxidasa, proactivador del C-3, y el factor antiestafilocócico, necesitan ser demostrados en el niño.
6. El papel de la leche humana en la prevención de desórdenes tales como la enterocolitis necrotizante, debe ser un asunto de alta prioridad de investigación en los niños que nacen y viven en sociedades industrializadas, con altos niveles socioeconómicos y ambiente sanitario adecuado.
7. La emotividad debe dejar paso a la evaluación científica en el enjuiciamiento de un fenómeno tan básico para la especie humana como es el de la alimentación al principio de su vida.

REFERENCIAS

1. Goldman, A. S. y Smith, C. W.: *Host resistant factors in human milk*. J. Pediat. 82: 1082, 1973.
2. Michael, J. G.; Reingenback, R. y Hottstein, S.: *The antimicrobial activity of human calostrical antibody in the newborn*. J. Infect. Dis. 124: 445, 1971.
3. Cebra, J. J.: *Immunoglobulins and immunocytes*. Bacteriol. Rev. 33: 159, 1969.
4. Havez, R.; Muh, J. P.; Bonte, M. y Biserte, G.: *Étude des gamma-A-globulines du colostrum humaine*. Clin. Chim. Acta 15: 7, 1967.
5. Mata, L. J. y Wyatt, R. G.: *Host resistance to infection*. Amer. J. Clin. Nutr. 24: 976, 1971.
6. Butter, J. E.: *Lactation: A comprehensive treatise*. Larson, B. L. y Smith, V. R. (Eds.). Nueva York, Academic Press, 1974. p. 217.
7. Amman, A. J. y Stiehm, E. R.: *Immunoglobulins levels in colostrum and breast milk and serum in formula and breast-fed newborns*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 122: 1098, 1966.
8. Debré, F.; Ramón, G.; Lévy-Solal, E. y Thiroloix, P.: *Sur le passage des antitoxines par le lait et le colostrum, en particulier dans l'espece humaine*. Nourison 18: 235, 1930.
9. Lemetayer, E.; Nicol, L.; Grasset, J.; Gauthier, R. y Pialoux, J.: *Teneur en antitoxine spécifique du colostrum chez les femmes vaccinées par la vaccin mixte antidiphthérique antitetanique*. Bull. Acad. Natl. Med. (Paris) 134: 22, 1950.
10. Adams, J. M.; Kimball, A. C. y Adams, F. H.: *Early immunization against pertussis*. Amer. J. Dis. Child. 74: 10, 1947.
11. Mouton, R. P.; Stoop, J. W.; Ballieux, R. E. y Mull, N. A. J.: *Pneumococcal antibodies in IgA of serum and external secretions*. Clin. Exp. Immunol. 7: 201, 1970.
12. Nordbring, F.: *Appearance of antistreptolysin and antistaphylolysin in human colostrum*. Acta Paediatr. 46: 481, 1952.
13. Van Genderen, J.: *Diphtherie-Antitoxin in Kolostrum und Muttermilch beim Menschen*. Z. Immunitaetsforsch. Allerg. Klin. Immunol. 83: 54, 1934.
14. Arnon, H.; Salzberg, M. y Olitzka, A. L.: *Appearance of antibacterial and antitoxic antibodies in maternal sera, umbilical cord blood and milk: Observation on*

- the specificity of antibacterial antibodies in human sera. Pediatrics* 23: 86, 1959.
15. Sussman, S.: *The passive transfer of antibodies to Escherichia coli 0111:B, from mother to offspring. Pediatrics* 29: 308, 1961.
 16. Adinolfi, M.; Glynn, A. A.; Lindsay, M. y Milne, C. M.: *Serological properties of gamma-A antibodies to Escherichia coli present in human colostrum. Immunology* 10: 517, 1966.
 17. Kenny, J. F.; Boesman, M. I. y Michaels, R. H.: *Bacterial and viral coproantibodies in breast-fed infants. Pediatrics* 39: 202, 1967.
 18. Timmerman, W. A.: *Zur Frage der Uebertragung des Typhus "H" und "O" Agglutinin von Mutter auf Kind. Z. Immunoforsch. Expr. Ther.* 70: 388, 1931.
 19. Schubert, J. y Grunberg, A.: *Zur Frage der Uebertragung von Immunantikörpern von der Mutter auf das Kind. Schweiz. Med. Wochenschr.* 79: 1007, 1949.
 20. Wong, D. H. y Wong, A. I. H.: *Significance of dysentery agglutinins in colostrum and milk. Natl. Med. J. China* 16: 673, 1930.
 21. Sabin, A. B. y Fieldsteel, A. H.: *Antipoliomyelitic activity of human and bovine colostrum and milk. Pediatrics* 29: 105, 1962.
 22. Hodes, H. L.: *Poliomyelitis antibodies in human colostrum and milk. J. Pediatr.* 65: 319, 1964.
 23. Michaels, R. H.: *Studies of antiviral factors in human milk and serum. J. Immunol.* 94: 262, 1965.
 24. Carlsson, B.: *Studies of E. coli O antigen specific antibodies in human milk, maternal serum and cord blood. Acta Paed. Scand.* 65: 216, 1976.
 25. Vahlquist, B.: *The transfer of antibodies from mother to offspring. Adv. in Pediatrics* 10: 125, 1958.
 26. Weiss, F.: *Untersuchungen über die Anwesenheit virulizider Vakzineantkörper in der Fraumilch und über die Frage ihrer trophogenen Uebertragung. Ann. Paediat.* 152: 192, 1939.
 27. Nordbring, F.: *The failure of newborn premature infants to absorb antibodies from heterologous colostrum. Acta Paediatr.* 46: 569, 1967.
 28. Shim, B. S.; Kans, Y. S.; Kim, W. J.; Cho, S. H. y Lee, D. B.: *Self protective activity of colostral IgA against tryptic digestion. Nature* 222: 787, 1969.
 29. Walker, W. A. e Issenbacher, K. J.: *Intestinal antibodies. New Engl. J. Med.* 297: 767, 1977.
 30. Laskowski, M. y Laskowski, E.: *Crystalline trypsin inhibitor from colostrum. J. Biol. Chem.* 190: 563, 1951.
 31. Coutrichansky, Y.; Berthillier, G. y Cot, R.: *Mise en évidence et caractérisation des complexes formés entre les immunoglobulines A (IgA) du colostrum humain et la trypsine ou la chymotrypsine. Clin. Chim. Acta* 30: 83, 1970.
 32. Gindrat, J. J.; Gothefors, L.; Hanson, L. A. y Winberg, J.: *Antibodies in human milk against E. coli of the serogroups most commonly found in neonatal infections. Acta Paediatr. Scand.* 61: 587, 1972.
 33. Iyengar, L. y Selvaraz, R. J.: *Intestinal absorption of immunoglobulins by newborn infants. Arch. Dis. Childh.* 47: 411, 1972.
 34. Carlsson, B.; Ahlstedt, S. y Hanson, L. A.: *E coli O antibody content in milk from healthy Swedish mothers and mothers from a very low socioeconomic group of a developing country. Acta Paediatr. Scand.* 65: 417, 1976.
 35. Hanson, L. A.; Carlsson, B.; Ahlstedt, S.; Svanborg, C. y Kaiser, B.: *Immune defense factors in human milk. Mod. Probl. Pediat.* 15: 63, 1975.
 36. Brandtzaeg, P.: *Immunoglobulin systems of oral mucosa and salivae. En: The oral mucosa in health and disease. Oxford. Blackwell.* 1974.
 37. Williams, R. C. y Gibbons, R. J.: *Inhibition of bacterial adherence by secretory immunoglobulin A: a mechanism of antigen disposal. Science* 177: 697, 1972.
 38. Bullen, J. J.; Rogers, H. J. y Leigh, L.: *Iron-binding protein in milk and resistance to Escherichia coli infection in infants. Brit. Med. J.* 1: 69, 1972.
 39. Walker, W. A.; Issenbacher, K. J. y Block, K. J.: *The role of immunization in controlling antigen uptake from the small intestine. En: The immunoglobulin. A system. Mestecky, J. y Lawton, A. R. (Eds.). Nueva York, Plenum Press.* 1974, p. 295.
 40. Schmidt, E.: *Grippevirus-hemmstoffe in Frauenmilch und Kuhmilch. I. Vergleichende Untersuchungen über Neuroaminsäuregehalt und die Höhe des Hemmitters in Hämagglutinationstest. Z. Kinderheilk.* 84: 339, 1960.
 41. György, P.; Dhanamitta, S. y Steers, E.: *Protective effects of human milk in experimental Staphylococcus infection. Science* 137: 338, 1962.
 42. Donné, A.: *Cours de microscopie. Paris, Bailliére.* 1844.
 43. Goldblum, R. M.; Ahlstedt, S.; Carlsson, B. y Hanson, L. A.: *Antibody production by human colostrum cells. (Res.) Pediat. Res.* 9: 330, 1975.
 44. Mohr, J. A.: *Lymphocyte sensitization passed to the child from the mother. Lancet* 1: 688, 1972.
 45. Beer, A. E. y Billingham, R. E.: *Immunologic benefits and hazard of milk in maternal perinatal relationships. Ann. Int. Med.* 83: 865, 1975.
 46. Smith, C. W. y Goldman, A. S.: *Interactions of lymphocytes and macrophages. Actions of lymphocytes and macrophages from human colostrum: characteristics of the interacting lymphocyte. Res. J. Reticuloendothel. Soc.* 8: 91, 1970.
 47. Murillo, G. J. y Goldman, A. S.: *The cells of human colostrum. II. Synthesis of IgA and IgG. Pediatr. Res.* 4: 71, 1970.
 48. André, A.; Peetom, F. y Rondman, K. W.: *Mise en évidence, dans le lait de mère, d'un facteur influencant le complexe intermédiaire de C dans la réaction d'immunohémolyse. Vox Sang.* 8: 99, 1964.
 49. Cordon, W. G.; Ziegler, J. y Basch, J. J.: *Isolation of an iron-binding protein from cow's milk. Biochem. Biophys. Acta* 60: 410, 1962.
 50. Masson, P. L.; Heremans, J. F. y Dive, C. H.: *An iron-binding protein common to many external secretions. Clin. Chim. Acta* 14: 735, 1966.
 51. Blanc, B. e Isliker, H.: *Transfer et équilibre de dialyse du ⁵⁹Fe entre les principales "ferriproteines". Helv. Chim. Acta.* 322: 2905, 1963.
 52. Chim, J. D. y Reiter, B.: *Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta* 170: 351, 1968.
 53. Kirkpatrick, C. H.; Green, I.; Rich, R. R. y Schade, A. L.: *Inhibition of growth of Candida albicans by iron-unsaturated lactoferrin. Relation to host defense mechanisms in chronic mucocutaneous candidiasis. J. Infect. Dis.* 124: 539, 1971.
 54. Bullen, J. J.; Rogers, H. J. y Leigh, L.: *Iron-binding protein in milk and resistance to, Escherichia coli infection in infants. Brit. Med. J.* 1: 69, 1972.
 55. Salton, M. R. J.: *The properties of lysozyme and its action on microorganisms. Bacteriol. Rev.* 20: 82, 1956.
 56. Jolles, P. y Jolles, J.: *Lysozyme from human milk. Nature* 192: 1187, 1961.
 57. Chandan, R. C.; Shahani, M. y Holly, R. G.: *Lysozyme content of human milk. Nature* 204: 76, 1964.
 58. Braun, O. H.: *Der Einfluss der Ernährung auf die fokale Lysozymausscheidung bei darmgesunden Säuglingen. Z. Kinderheilk.* 83: 690, 1960.
 59. Rosenthal, L. y Lieberman, H.: *The role of lysozyme in the development of the intestinal flora of the newborn infant. J. Infect. Dis.* 48: 226, 1931.
 60. Miller, T. W.: *Killing and lysis of gram-negative bacteria through the synergistic effect of hydrogen peroxide, ascorbic acid, and lysozyme. J. Bacteriol.* 98: 949, 1969.

61. Steele, W. F. y Morrison, M.: *Antistreptococcal activity of lacto-peroxidase*. J. Bacteriol. 97: 635, 1969.
62. Cyllenberg, H. y Roine, P.: *The value of colony counts in evaluating the abundance of Lactobacillus bifidus, in infant's faeces*. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 41: 144, 1957.
63. Tissier, H.: *Recherches sur la flore intestinale et pathologique du nourrisson*. Paris. 1900.
64. György, P.: *A hitherto unrecognized biochemical difference between human milk and cow's milk*. Pediatrics 11: 98, 1953.
65. Gauhe, A. P.; György, P.; Hoover, J. R. F.; Kuhn, R.; Rose, C. S.; Rüchli, H. W. y Zilliben, F.: *Bifidus factor. IV. Preparations obtained from human milk*. Arch. Biochem. Biophys. 48: 214, 1954.
66. Tomarelli, R. M.; Hassinen, J. B.; Eckhardt, E. R.; Clark, R. H. y Bernhart, F. W.: *The isolation of a crystalline growth factor for a strain of Lactobacillus bifidus*. Arch. Biochem. Biophys. 48: 225, 1954.
67. György, P.: *N-containing saccharides in human milk*. Ciba-Found. Symp. Chem. Biol. Mucopolysaccharide. Boston, Little Brown & Co. 1958, p. 140.
68. Rose, C. S.; Kuhn, R.; Zilliken, F. y György, P.: *Bifidus factor. V. The activity of alfa and beta methyl-N-acetyl-D-glucosaminide*. Arch. Biochem. Biophys. 48: 123, 1954.
69. Mata, L. J. y Urrutia, J. J.: *Intestinal colonization of breast fed children in a rural area of low socioeconomic level*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 176: 93, 1971.
70. Floyd, T.; Higgins, A. R. y Kader, M. A.: *Studies in shigellosis. V. The relationship of age to the incidence of Shigella infections in Egyptian children, with special reference to shigellosis in the first six months of life*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 5: 119, 1956.
71. Beck, D. M.; Muñoz, J. A. y Scrimshaw, N. S.: *Studies on diarrheal diseases in Central America. I. Preliminary findings on cultural surveys of normal population groups in Guatemala*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 6: 62, 1957.
72. Mata, L. J.; Urrutia, J. J.; García B.; Fernández, R. y Béhar, M.: *Shigella infections in breast-fed Guatemalan Indian neonates*. Amer. J. Dis. Child. 117: 142, 1969.
73. Mata, L. J.; Urrutia, J. J. y García, B.: *Effect of infection and diet on child growth: experience in a Guatemalan village*. En: *Nutrition and infection*. Wolstenholme, G. E. W. y Connor, M. O. (Eds.). Londres, Ciba Foundation. 1967, p. 112.
74. Newman, G.: *Infant mortality*. Londres, Methuens. 1906.
75. Robinson, M.: *Infant morbidity and mortality. A study of 3266 infants*. Lancet 1: 788, 1961.
76. Mannheim, E.: *Mortality of breast-fed and bottle-fed infants. A comparative study*. Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma) 5: 134, 1955.
77. Mellander, O.; Vahlquist, B. y Melbin, T.: *Breast feeding and artificial feeding. A clinical, serological and biochemical study in 402 infants with a survey of the literature. The Norbotten study*. Acta Paediatr. (Supl. 116) 48: 1, 1959.
78. Woodbury, R. M.: *The relation between breast and artificial feeding and infant mortality*. Amer. J. Hyg. 2: 668, 1922.
79. Grulee, C. G.; Sanford, H. N. y Herron, P. H.: *Breast and artificial feeding. Influence on morbidity and mortality of twenty thousand infants*. JAMA 103: 735, 1934.
80. Grulee, C. G.; Sanford, H. N. y Schwartz, A.: *Breast and artificially fed infants. A study of the age incidence in the morbidity and mortality*. JAMA 104: 1926, 1935.
81. Stewart, A. y Wistropp, C.: *Breast-feeding in the Oxford child health survey. II. Comparison of bottle and breast-fed babies*. Brit. Med. J. 2: 305, 1953.
82. Adebajo, F. W.: *Artificial vs. breast feeding: relation to infant health in a middle class American community*. Clin. Pediatr. 11: 25, 1972.
83. Gordon, J. E. e Ingalls, T. H.: *Weanling diarrhea*. Amer. J. Med. Sci. 245: 345, 1963.
84. Wyatt, R. G. y Mata, L. J.: *Bacteria in colostrum and milk of Guatemalan Indian women*. J. Trop. Pediatr. 15: 159, 1969.
85. Mata, L. J.; Urrutia, J. J. y Gordon, J. E.: *Diarrheal disease in a cohort of Guatemalan village children observed from birth to age two years*. Trop. Geogr. Med. 19: 247, 1967.
86. Cravioto, J.; Vega, L. y DeLicardie, E.: *Ecología de la diarrea del recién nacido en el medio rural*. Manuscrito no publicado.
87. Cunningham, A. S.: *Morbidity in breast feeding and artificially fed infants*. J. Pediatr. 90: 726, 1977.
88. Swirsky-Cross, S.: *Pathogenic strains of E. coli (0.111) among prematures and the use of human milk in controlling the outbreak of diarrhea*. Ann. Paediatr. 180: 109, 1958.
89. Tassovatz, B. y Kotsitoh, A.: *Le lait de femme et son action de protection contre les infections intestinales chez le nouveau né*. Ann. de Pédiatrie 8: 285, 1961.
90. Larguía, A. M.; Urman, J. y Ceriani, J. M.: *Inmunidad local en el recién nacido. Primera experiencia contra la administración de calostro humano a recién nacidos pretérmino*. Arch. Argent. Pediatr. 72: 109, 1974.
91. Barlow, B.; Santulli, T. V.; Heird, W., Pitt, J., Blanc, W. A. y Schulling, J. N.: *An experimental study of acute neonatal enterocolitis. The importance of breast milk*. J. Ped. Surg. 9: 587, 1974.
92. Herbst, J. J.: *Diet and necrotizing enterocolitis. En: Necrotizing enterocolitis in the newborn infant*. Ross Conference Reports 68: 71, 1975.